



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Sistema de recirculação de água para larvicultura de ostras
Crassostrea gigas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Claudio Manoel Rodrigues de Melo

Patrick Rafael Dybas

Florianópolis/SC
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Dybas, Patrick Rafael

Sistema de recirculação de água para larvicultura de
ostras *Crassostrea gigas* / Patrick Rafael Dybas ;
orientador, Claudio Manoel Rodrigues de Melo -
Florianópolis, SC, 2014.

60 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Sistema fechado. 3. Ras. 4.
Compostos nitrogenados. 5. Moluscos bivalves. I. Melo,
Claudio Manoel Rodrigues de . II. Universidade Federal de
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.
III. Título.

Sistema de recirculação de água para larvicultura de ostras
Crassostrea gigas

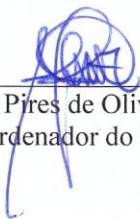
Por

PATRICK RAFAEL DYBAS

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura.



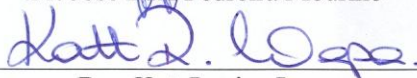
Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:



Dr. Claudio Manoel Rodrigues de Melo – *Orientador*

Dr. José Luiz Pedreira Mouriño



Dra. Katt Regina Lapa



Dr. Marcos Caivano Pedroso de Albuquerque

Dedico este trabalho aos
meus pais, Ivonete e
Paulinho.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela saúde, capacidade e oportunidade de superação.

Aos meus pais pela vida, oportunidade de estudos, incentivo, cuidados, ensinamentos, conselhos e o mais importante, a amizade e amor.

As minhas irmãs Tissyane e Franciane pelo simples fato de fazerem parte da minha vida.

A minha esposa Karine, por fazer parte do meu dia-a-dia, sempre me apoiando e me dando energia para seguir em frente.

Ao meu orientador e amigo Claudio Manoel Rodrigues de Melo pela oportunidade de realização desse trabalho, pelo apoio, incentivo, liberdade, ideias, ensinamentos e convivência ao longo dos anos.

Aos professores do Laboratório de Moluscos Marinhos, Gilberto e Marcão, ao corpo técnico, Carlos Henrique, Chico, Jaqueline, Claudio Blacher, Marisa, aos funcionários Duda, Sino, Zezé, Alexandre, Bê. Sem eles esse trabalho não seria realizado.

Ao técnico Carlos Manoel do Espirito Santo, e aluna Marysol dos Santos Rodrigues do Laboratório de Camarões Marinhos, cedendo seu espaço e conhecimento, para a realização de análises de parâmetros físico-químicos de qualidade de água, mesmo em cima da hora.

Ao secretário da pós-graduação Carlito Klunk, sempre disposto a ajudar, mesmo nos últimos minutos.

Ao amigo Luciano Molognoni do SLAV/SC/LANAGRO/RS/MAPA, pelos ensinamentos, paciência e fundamentais análises de qualidade de água, sem a sua ajuda ficaria muito mais difícil.

As amigas Aline Thomasi e Mariane Silveira, pela fundamental ajuda e muita paciência.

A toda equipe, Robson Cardoso da Costa, Rodrigo Mansano, Diego Chierighini, Thiago Gil, Francisco Lagreze, Vanessa Nascimento, Simone Suhnel, Renata Bezerra, Angela e Jefferson Legat que ajudaram de alguma forma para que este trabalho fosse realizado.

Aos colegas do curso pela troca de ideias.

Aos amigos Khauê, Bruno, Gabriel, Carlos Melo, Gustavo Lopes e Zé Luiz pelos momentos de aprendizagem, descontração e amizade.

À Universidade Federal de Santa Catarina pelo ensino gratuito de qualidade, pelos livros dispostos e toda estrutura.

A CAPES por ter concedido a bolsa, foi de fundamental ajuda.

RESUMO

Foram realizados estudos visando a implantação de um sistema de recirculação de água na larvicultura de ostras *Crassostrea gigas*. Testou-se a resistência das larvas a compostos nitrogenados, foram avaliados os parâmetros físico-químicos e presença de compostos nitrogenados da água de cultivo e também avaliou-se a densidade de estocagem e alimentação. As CL_{50} para amônia e nitrito foram respectivamente $2,66 \text{ mg.L}^{-1}$ e $123,47 \text{ mg.L}^{-1}$. Os parâmetros físico-químicos se mostraram constantes, não foram detectados níveis de compostos nitrogenados ($<0,02 \text{ mg.L}^{-1}$) e a sobrevivência foi de $25 \pm 8\%$ em larvicultura com duração de 14 dias. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre as densidades de estocagem e alimentação sobre o número médio de larvas, contudo houve diferença estatística entre as densidades de estocagem e alimentação na sobrevivência larval. A sobrevivência das larvas na concentração de microalgas 1 a $4,5 \times 10^4 \text{ células.mL}^{-1}$ é equivalente à concentração de microalgas 5,2 a $140 \times 10^4 \text{ células.mL}^{-1}$, entretanto difere estatisticamente ($p < 0,05$) da observada na concentração de microalgas 2 a $9 \times 10^4 \text{ células.mL}^{-1}$, ou seja, a sobrevivência larval foi superior na concentração 1 a $4,5 \times 10^4 \text{ células.mL}^{-1}$ e 5,2 a $140 \times 10^4 \text{ células.mL}^{-1}$, seguido pela concentração 2 a $9 \times 10^4 \text{ células.mL}^{-1}$.

Palavras chave: Aquicultura, sistema fechado, ras, compostos nitrogenados, moluscos bivalves.

ABSTRACT

Studies aiming to implement a water recirculation system in larvae of *Crassostrea gigas* oysters were performed. The resistance of the larvae to nitrogen compounds was tested, physical and chemical parameters and the presence of nitrogen compounds of water culture were evaluated and the stocking density and feeding were also assessed. The LC_{50} for ammonia and nitrite were respectively 2.66 mg.L^{-1} and 123.47 mg.L^{-1} . Physical and chemical parameters showed constant, no level of nitrogenous compounds were found ($<0.02 \text{ mg.L}^{-1}$) and survival was $25 \pm 8\%$ in larvae lasting 14 days. There were no statistical differences between the storage and feeding densities on the average number of larvae, however there was statistical difference between stocking and feeding densities in larval survival. Larval survival in a microalgae concentration of 1 to $4.5 \times 10^4 \text{ cells.mL}^{-1}$ is equivalent to a microalgae concentration of 5.2 to $140 \times 10^4 \text{ cells.mL}^{-1}$, however differs statistically ($p < 0.05$) of the observed in a microalgae concentration of 2 to $9 \times 10^4 \text{ cells.mL}^{-1}$, i.e., larval survival was higher in concentration of 1 to $4.5 \times 10^4 \text{ cells.mL}^{-1}$ and 5.2 to $140 \times 10^4 \text{ cells.mL}^{-1}$, followed by concentration of 2 to $9 \times 10^4 \text{ cells.mL}^{-1}$.

Keywords: Aquaculture, closed system, ras, nitrogenous compounds, bivalves.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sobrevivência de larvas de *Crassostrea gigas*, em diferentes concentrações de amônia (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-). 33

Figura 2: Esquema do sistema contínuo de larvicultura em recirculação.. 43

Figura 3: Número médio e sobrevivência de larvas no 9º dia nos tratamentos, em cada densidade e alimentação 51

Figura 4: Número médio e sobrevivência de larvas no 14º dia nos tratamentos, em cada densidade e alimentação. 52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tamanho médios das larvas do tratamento controle e submetidas aos compostos químicos amônia não-ionizada (NH_3), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) no tempo zero, e após 96 h de exposição.....	31
Tabela 2: Valores de CL_{50} de amônia total (NH_4^+), amônia não-ionizada (NH_3), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) após 96 h de exposição e seus respectivos intervalos de confiança 95% (entre parênteses).....	32
Tabela 3: Quantidade e proporção de alimento fornecida nas unidades experimentais ao longo do tempo.....	44
Tabela 4: Quantidade de alimento fornecida, alimento na entrada e saída das unidades experimentais e microalgas consumidas ao longo do tempo.....	48
Tabela 5: Médias e desvio padrão do número, sobrevivência e tamanho das larvas no período de larvicultura.	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCA - Centro de Ciências Agrárias

céls - Célula

CL₅₀ – Concentração Letal Média

CO₂ – Dióxido de Carbono

EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

g - Grama

h - Hora

L - Litro

LANAGRO/RS – Laboratório Nacional Agropecuário/Rio Grande do Sul

LCM - Laboratório de Camarões Marinhos

LMM – Laboratório de Moluscos Marinhos

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura

mg - Miligrama

mL - Mililitro

NH₃ – Nitrogênio Amoniacal Não-Ionizado

NH₄⁺ - Nitrogênio Amoniacal

NO₂⁻ – Nitrogênio de Nitrito

NO₃⁻ – Nitrogênio de Nitrato

P.A – Para Análise

pg - Picograma

pH – Potencial Hidrogeniônico

SLAV/SC – Serviço Laboratorial Avançado/Santa Catarina

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

W - Watt

µm – Micrometro

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	21
CAPÍTULO I – NOTA CIENTÍFICA (Short communication)	24
Avaliação da faixa letal de compostos nitrogenados em larvas da ostra <i>Crassostrea gigas</i>	24
RESUMO	25
ABSTRACT	26
1. INTRODUÇÃO	27
2. MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1 Local e material biológico	28
2.2 Obtenção de larva D	28
2.3 Avaliação da faixa letal (CL ₅₀) de compostos nitrogenados em <i>C. gigas</i>	29
2.4 Análise de compostos nitrogenados	30
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4. CONCLUSÕES	34
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
CAPÍTULO II - ARTIGO CIENTÍFICO	36
Efeito da densidade e da concentração de alimento no cultivo de larvas da ostra <i>Crassostrea gigas</i> em sistema de recirculação.	36
RESUMO	37
ABSTRACT	38
1. INTRODUÇÃO	39
2. MATERIAL E MÉTODOS	41
2.1 Local e material biológico	41
2.2 Obtenção de larva D	41
2.3 Sistema contínuo de larvicultura em recirculação	42
2.4 Experimentos	43
Avaliação dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo e biológicos das larvas no sistema contínuo de larvicultura em recirculação	43
Avaliação da sobrevivência de larvas em sistema contínuo de larvicultura em recirculação	44

2.5 Análise das larvas	45
2.6 Consumo de alimento.....	45
2.7 Quantificação do oxigênio dissolvido, pH, temperatura e salinidade	45
2.8 Quantificação dos compostos nitrogenados	46
2.9 Análise estatística.....	46
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
3.1 Avaliação dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo e biológicos das larvas no sistema contínuo de larvicultura em recirculação.....	46
3.2 Avaliação da sobrevivência de larvas em sistema contínuo de larvicultura em recirculação.....	49
4. CONCLUSÕES	53
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL ..	58

INTRODUÇÃO

A produção aquícola mundial apresentou crescimento contínuo na última década, embora mais lento que o observado nas décadas de 1980 e 1990. Em 2010 a produção aquícola mundial alcançou 79 milhões de toneladas e gerou receita de aproximadamente 125 bilhões de dólares. Desse montante a produção em água salgada foi de 18,3 milhões de toneladas, sendo que dessa produção, 75,5% foram de molusco e 4,5 milhões de toneladas de ostras (FAO, 2012).

A ostra do pacífico (*Crassostrea gigas*, THUNBERG, 1793) foi introduzida no Brasil na década de 70 (MELO et al., 2009). Desde então, vários estudos têm sido realizados fortalecendo a produção da espécie no país (FERREIRA et al., 2006). Essa espécie possui grande potencial para aquicultura e ampla tolerância às condições ambientais, sendo cultivada em muitas regiões do mundo. É um animal estuarino que tolera salinidades desde 10 a mais de 35 e temperaturas de - 1,8 °C a 35 °C, com intervalo ótimo de crescimento e sobrevivência entre 20 e 25 de salinidade, 26 °C e 28 °C de temperatura (HELM; BOURNE, 2004; FAO, 2012). No Brasil, representa 12% da produção de moluscos bivalves, alcançando 1.908,0 toneladas, onde são cultivadas também outros bivalves como o mexilhão *Perna perna*, as ostras nativas *Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gasar* e a vieira *Nodipecten nodosus* (MPA, 2010).

Para manter o crescimento da atividade, a inovação tecnológica faz-se necessário aprimorar as técnicas de produção. Exemplo disso é o desenvolvimento de tecnologias para obtenção de sementes de moluscos em laboratório. Entretanto, o sistema estático, mundialmente utilizado nas larviculturas de bivalves, apresenta desvantagens, como o extenso espaço físico utilizado pelos tanques de larvicultura, grande volume de água gastos nas trocas de água diárias, grande quantidade de energia para aquecimento dessa água, alimentação irregular, sendo que o alimento é fornecido uma única vez ao dia, baixa densidade larval e tempo dispendido de mão de obra especializada durante os manejos.

Nas últimas décadas foram realizados testes em sistemas de larvicultura de fluxo contínuo com pequeno volume e alta densidade larval. As larviculturas realizadas em sistemas de fluxo contínuo trazem uma série de vantagens, com destaque à redução da área de laboratório necessária, o controle da qualidade da água na larvicultura e a redução do manejo (Southgate and Ito, 1998; King et al., 2004; Sarkis et al., 2006). Os cultivos larvais com uso de fluxo contínuo demonstraram

melhores resultados que os sistemas de larvicultura padrão com e sem o uso de antibióticos (SARKIS et al., 2006). Além dos benefícios supracitados, esses sistemas são utilizados em estudos ecológicos como o desenvolvido por Meinertz et al., (2008), os quais avaliaram a toxicidade de peróxido de hidrogênio em *Daphnia magna*.

Robert and Gérard (1999) mencionaram que o cultivo de larvas neste sistema é uma realidade para a ostra *Crassostrea gigas* e enfatizam que laboratórios ingleses chegam a cultivar em densidades iniciais de até 800 larvas.mL⁻¹, obtendo resultados finais de 70 a 100 larvas olhadas.mL⁻¹. Em pectinídios, alguns pesquisadores também vêm desenvolvendo sistemas contínuos, principalmente com *Pecten maximus* devido a grandes problemas com mortalidade por contaminação bacteriana em sistemas estáticos (Andersen et al., 2000; Torkildsen and Magesen, 2004; Magesen et al., 2006).

Para um bom crescimento, sobrevivência e posterior sucesso no assentamento larval a quantidade de alimento disponível é um fator crucial. Há uma correlação negativa entre sobrevivência e concentração de microalgas, indicando que a concentração de alimento pode ser um dos fatores mais importantes no sucesso das larviculturas em sistemas de fluxo contínuo (MAGNESEN et al., 2006).

Estudos demonstram que o sistema de fluxo contínuo permite que a larva tenha uma quantidade ideal e constante de alga, diferente do sistema estático, onde as quantidades de alimento variam muito, devido à mortalidade de microalgas (Martínez et al., 1995; Southgate and Ito, 1998;). Essa mortalidade de microalgas associada com a concentração de fezes e pseudo-fezes favorece o rápido crescimento de bactérias e protozoários, o que debilita a larva e causa mortalidades massivas nas larviculturas (Andersen et al., 2000; Torkildsen and Magesen, 2004).

No entanto, os sistemas de fluxo contínuo utilizados globalmente são do tipo aberto, embora reduzam a necessidade de espaço físico e de mão de obra, continuam utilizando grande volume de água.

Para conciliar o aumento da produção com o cultivo sustentável é necessário que se faça uso de tecnologias de produção, tais como a recirculação de água. Segundo Kubitz (2006), a partir da década de 80, os estudos visando o uso de sistemas de recirculação se intensificaram no Japão, Estados Unidos, Israel e diversos países europeus. As principais características dos sistemas de recirculação são a alta densidade de cultivo e a baixa renovação de água, além de permitir o maior controle sobre os parâmetros físico-químicos, assim como o controle de patógenos e fatores ambientais.

Os parâmetros físico-químicos são baseados na qualidade de água, onde uma água pobre quimicamente leva a deterioração da qualidade de água, causando estresse para os organismos cultivados. Enquanto num sistema onde a qualidade de água é superior, tem se bons resultados no desempenho zootécnico dos organismos cultivados (WICKINS, 1981).

Os sistemas de recirculação de água já estão bem estabelecidos na aquicultura. Sistemas bem sucedidos dependem essencialmente de projetos iniciais adequados para o organismo de cultura, levando também em consideração os custos associados à construção e operação do sistema. Os sistemas de recirculação em cultivos aquáticos demandam considerável investimento e capital operacional. Assim, o cultivo deve ser focado em espécies de bom valor de mercado e conduzido de forma a otimizar o uso das instalações e a produção. Com isso é possível diluir importantes componentes de custo do empreendimento, reduzindo os custos de produção e melhorando o retorno do capital investido (Singh et al., 1999; Colt, 2006; Watson and Hill, 2006; Kubitza, 2006).

A manutenção e o conhecimento dos limites de tolerância de uma espécie em relação à qualidade da água são requisitos indispensáveis em qualquer sistema de criação (COLT, 2006). Um dos principais parâmetros a ser controlado num sistema de recirculação são os compostos nitrogenados (Ebeling et al., 1995). Os testes de toxicidade com organismos aquáticos realizados em laboratório permite a avaliação dos efeitos de agentes tóxicos que podem provocar alterações na qualidade da água, os testes de toxicidade servem de base para a política adequada de gestão dos recursos ambientais, constituindo um instrumento fundamental na preservação do ambiente (EPA, 1995). Para os testes de mortalidade aguda, normalmente se utiliza a concentração letal, que representa a dose capaz de matar uma dada percentagem dos indivíduos de uma população teste em determinado período de tempo. O indicador de letalidade mais utilizado é o CL_{50} , correspondente à concentração capaz de matar 50% dos indivíduos de uma população (COLT, 2006).

Neste sentido, o presente estudo avaliou no seu primeiro capítulo a resistência larval a compostos nitrogenados. O segundo capítulo está focado no comportamento dos parâmetros físico-químicos da água salgada, parâmetros biológicos, presença de compostos nitrogenados e o efeito da densidade larval e regime alimentar em sistemas fechados de recirculação em larvicultura de ostras *C. gigas*.

CAPÍTULO I – NOTA CIENTÍFICA (Short communication)

Avaliação da faixa letal de compostos nitrogenados em larvas da ostra *Crassostrea gigas*.

Patrick Rafael Dybas^{1, 2}, Carlos Henrique Araújo de Miranda Gomes^{1, 2}, Emílio Mateus Costa Melo^{1, 2}, Claudio Manoel Rodrigues de Melo^{1*}.

¹ Laboratório de Moluscos Marinhos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Rua Beco dos Coroas, 305, Barra da Lagoa. CEP 88.061-600, Florianópolis, Santa Catarina (SC), Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Departamento de Aquicultura (UFSC). Rodovia Ademar Gonzaga, 1346, Itacorubi, CEP 88034-001, Florianópolis, SC, Brasil.

* Autor para correspondência: claudio.melo@ufsc.br

RESUMO

O conhecimento das necessidades e limites biológicos de espécies de interesse econômico para cultivo é de fundamental importância para o sucesso nos sistemas de cultivo. O objetivo deste estudo foi verificar a concentração letal de compostos nitrogenados em larvas de moluscos bivalves. Neste estudo foi realizado um teste de toxicidade aguda dos compostos amônia, nitrito e nitrato, em larvas “D” da ostra *Crassostrea gigas*. Nos resultados, os valores de concentrações letais em 96 horas do íon amônia (NH_4^+), amônia (NH_3) e nitrito (NO_2^-), foram de 2,66 mg.L^{-1} , 0,10 mg.L^{-1} , 123,47 mg.L^{-1} , respectivamente. Não foi encontrado um valor de CL_{50} para nitrato. As larvas de *C. gigas* demonstraram grande tolerância a compostos nitrogenados.

Palavras chave: Toxicidade, amônia, nitrito, nitrato, *Crassostrea gigas*.

ABSTRACT

Knowledge of the needs and biological limitations for the economically important species is fundamental to have success in cultivating systems. The aim of this study was to determine the lethal concentration of nitrogen compounds in larvae of bivalves. In this study, a test of acute toxicity of ammonia, nitrite and nitrate compounds was performed on the oyster *Crassostrea gigas* larvae “D”. As results, the values of lethal concentration at 96 hours of the ammonium ion (NH_4^+), ammonia (NH_3) and nitrite (NO_2^-), were 2.66 mg.L^{-1} , 0.10 mg.L^{-1} , 123.47 mg.L^{-1} , respectively. There was no clear LC_{50} for nitrate. The larvae of *C. gigas* showed great tolerance to nitrogenous compounds.

Keywords: Toxicity, ammonia, nitrite, nitrate, *Crassostrea gigas*.

1. INTRODUÇÃO

No meio aquático, as formas mais comuns do nitrogênio inorgânico são de íon amônio (NH_4^+), amônia (NH_3), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) (Tomasso, 1994; Russo, 2002). Esses íons podem estar presentes naturalmente ou artificialmente nos ecossistemas aquáticos. Naturalmente, eles ocorrem como resultado da deposição atmosférica, escoamento de águas superficiais e subterrâneas, dissolução de depósitos geológicos ricos em nitrogênio, fixação do N_2 por bactérias e degradação biológica da matéria orgânica (Colt and Armstrong, 1979; Tomasso, 1994). A principal forma de excreção dos organismos aquáticos é a amônia. Composto altamente tóxico precursor do ciclo do nitrogênio, onde é oxidado a nitrato em um processo de duas etapas. Primeiramente, o NH_4^+ e/ou NH_3 é oxidado a NO_2^- , através das bactérias do gênero *Nitrosomonas* e *Nitrossococcus*, posteriormente o NO_2^- é oxidado a NO_3^- , através de bactérias do gênero *Nitrobacter*, ambas as etapas ocorrem em ambiente aeróbico. Após essa fase ocorre a desnitrificação, onde o nitrato é reduzido a nitrogênio molecular, processo principalmente operado pelas bactérias do gênero *Pseudomonas*, processo anaeróbico, já que essas bactérias utilizam o nitrato como receptor de elétrons, ao invés do oxigênio (Merrick and Edwards, 1995; Gruber, 2008; Jetten, 2008).

A principal fonte de compostos nitrogenados são a decomposição da matéria orgânica e a excreção dos organismos presentes no sistema de cultivo (Tomasso, 1994). Nos organismos aquáticos, a amônia quando se encontra em alta concentração no meio pode causar diversos efeitos, como redução na excreção do organismo, podendo paralisar ou reduzir o consumo de alimento; ter efeito na osmorregulação, aumentando a permeabilidade das membranas e reduzindo a concentração interna de íons; no transporte do oxigênio nos tecidos, por danificar as brânquias; no estado fisiológico, causando estresse e tornando organismo susceptível a doenças ou permitindo a fixação de microorganismos oportunistas e também interfere no crescimento, pois afeta a taxa de filtração (Colt and Armstrong, 1979). Referente à toxicidade do nitrito, quando em concentrações elevadas, afeta o transporte de oxigênio, danifica os tecidos e afeta o crescimento, entre outros. Sua presença na água, juntamente com a amônia não ionizada, aumenta a toxicidade para os organismos (Colt and Armstrong, 1979). O nitrato é considerado menos tóxico que os demais compostos, porém

pode afetar a osmorregulação, o transporte de oxigênio nos tecidos e o crescimento (Colt and Armstrong, 1979).

Para os testes de toxicidade aguda, normalmente se utiliza a concentração letal, que representa a dose capaz de matar uma dada percentagem dos indivíduos de uma população teste em determinado período de tempo. O indicador de letalidade mais utilizado é o CL₅₀, correspondente à concentração capaz de matar 50% dos indivíduos de uma população (Colt, 2006).

Estudos referentes à toxicidade de compostos nitrogenados em larvas de *C. gigas* são escassos. Ainda são necessário estudos para determinar com mais clareza esses aspectos. Neste sentido, este estudo avaliou a toxicidade de compostos nitrogenados para larvas D da ostra *C. gigas*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e material biológico

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM), localizado na Estação de Maricultura “Elpídio Beltrame” (CCA/UFSC).

As larvas D utilizadas nos experimentos foram produzidas a partir de reprodutores da ostra *Crassostrea gigas*, no LMM.

2.2 Obtenção de larva D

Para a obtenção das larvas D, foram realizadas desovas utilizando 15 reprodutores, as desovas ocorreram em julho de 2014. As ostras foram sacrificadas para a extração dos gametas com a técnica do “*strip*”, que consiste na raspagem do corpo mole do animal com auxílio de bisturi. Os animais foram separados previamente por sexo, através de análise microscópica. Os oócitos obtidos foram coletados em balde de 20 litros, e fertilizados com solução de espermatozoides, com três doses de 20 mL em intervalos de 20 minutos. Após a fertilização esta solução foi transferida para um tanque de 20.000 L onde permaneceu por 24 h. Após este período, o tanque foi esvaziado e as larvas “D” retidas em uma peneira com malha de 35 µm. Logo após, as larvas foram transferidas para um balde graduado de 20 L, homogeneizadas, e coletadas três amostras de 1 mL, contadas em microscópio para estimar

a quantidade de larvas e posterior distribuição nos tanques de larvicultura.

2.3 Avaliação da faixa letal (CL_{50}) de compostos nitrogenados em *C. gigas*

Neste estudo foi avaliada a concentração letal (CL) da amônia, do nitrito e do nitrato de acordo metodologia descrita no manual *Acute Toxicity Test for Estuarine and Marine Organisms* (Mollusc 48-hour embryo larvae study) (EPA, 1985) e no *Standard Guide for Conducting Acute Toxicity Tests on Test Materials with Fish, Macroinvertebrates, and Amphibians*. (ASTM, 2004).

Para cada composto nitrogenado testado foram utilizadas três concentrações, sendo para amônia 1, 2 e 3 mg.L⁻¹, nitrito 50, 100, 150 mg.L⁻¹ e para nitrato 500, 1.000 e 1.500 mg.L⁻¹. Foi utilizado um delineamento inteiramente ao acaso com três tratamentos e três repetições, grupo controle e grupo branco totalizando 39 unidades experimentais.

As concentrações foram determinadas tendo como limite superior e limite inferior, valores encontrados na bibliografia (Epifanio and Srna, 1975; EPA, 1989; EPA, 1993). Os valores das concentrações desejadas foram obtidos por meio de soluções padrão, de cloreto de amônia P.A (SYNTH®), nitrito de sódio P.A (SYNTH®) e nitrato de sódio P.A (SYNTH®) (Rice et al., 2005).

As unidades experimentais foram alocadas aleatoriamente em “banho-maria” em um tanque de fibra de vidro de 1,74 m² contendo aproximadamente 174 L de água, aquecida a 25 °C por meio de 2 aquecedores submersos de 100 W com termostato, e 2 bombas SARLO® modelo S-180, promovendo circulação da água e um aquecimento constante.

A salinidade e a temperatura foram mensurados diariamente pela manhã, através de um refratômetro manual (KASVI®, modelo K52-100) e termômetro analógico bastão (INCOTERM®). O pH foi mesurado duas vezes ao dia, as 10 horas e às 18 horas, através de um pHmetro de bancada (ALFAKIT®, modelo AT-350).

Foram utilizadas larvas “D”, com densidade de 20 larvas.mL⁻¹ em recipientes com volume de 1 L, sem alimentação, com temperatura e aeração constante e cobertas com papel-filme, a fim de diminuir a evaporação da água. As trocas de água aconteceram a cada 24 horas.

Para cada tratamento, a sobrevivência das larvas foi avaliada após 24, 48, 72, 96 e 120 h de exposição.

Para determinar o tamanho das larvas, foi medida a altura, a partir do umbo, de 15 larvas por unidade experimental, no início e ao término do experimento.

Amostras de água foram retiradas diariamente de todas as unidades experimentais (concentrações, branco e controle) para monitoramento da concentração dos compostos nitrogenados testados.

2.4 Análise de compostos nitrogenados

A análise de nitrogênio amoniacal foi realizada pelo método colorimétrico indofenol, segundo procedimento descrito no manual de análises de água marinha (Strickland and Parsons, 1972).

A quantificação de nitrito foi realizada pelo método colorimétrico, segundo procedimento descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Rice et al., 2005). As amostras de água para quantificação de nitrato foram analisadas no sistema de eletroforese capilar por zona (marca AGILENT TECHNOLOGIES®, modelo G1600A).

As CL's₅₀ para larvas de *C. gigas*, em 96 horas, e seus respectivos intervalos de confiança (95%), foram estimadas com a utilização do “software” *Trimmed Spearman Karber Method* (Hamilton et al., 1977). A quantidade de amônia não-ionizada foi calculada segundo Bower and Bidwell (1978).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de pH foram $7,93 \pm 0,15$, salinidade $34,2 \pm 1,4$ e temperatura $24,7 \pm 0,5$ °C.

As larvas submetidas aos químicos, assim como as larvas do tratamento controle apresentaram tamanho de $70,1 \pm 2,7$ µm (Tabela 1).

Tabela 1: Tamanho médios das larvas do tratamento controle e submetidas aos compostos químicos amônia não-ionizada (NH_3), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) no tempo zero, e após 96 h de exposição.

Tempo (h)	Composto	Concentração (mg.L^{-1})	Tamanho
0	-	-	$63,5 \pm 1,7$
96	NH_3	1	$71,4 \pm 3,8$
		2	$72,6 \pm 4,5$
		3	$68,8 \pm 3,6$
		50	$70,2 \pm 2,6$
	NO_2^-	100	-
		150	-
		500	$70 \pm 3,3$
	NO_3^-	1.000	$71,4 \pm 3,1$
		1.500	$71,5 \pm 3,9$
	Controle	-	$71,8 \pm 4,8$

A sobrevivência no tratamento controle foi superior a 90%, demonstrando que a reserva energética proveniente do vitelo, é suficiente para manter um bom funcionamento das funções vitais. A porcentagem de amônia não-ionizada durante o experimento foi de $3,7 \pm 0,5\%$. Os valores de CL_{50} (e seus respectivos intervalos de confiança 95%) para os químicos analisados foram: amônia total (NH_4^+) $2,66 \text{ mg.L}^{-1}$ ($2,65\text{--}2,98$), amônia não-ionizada (NH_3) $0,10 \text{ mg.L}^{-1}$ ($0,10\text{--}0,10$), nitrito (NO_2^-) $123,47 \text{ mg.L}^{-1}$ ($121,98\text{--}124,98$), nitrato (NO_3^-) não encontrado, após 96 h de exposição (

Tabela 2). A sobrevivência das larvas submetidas ao químico amônia começou a ser afetada após 72 horas de exposição na concentração 3 mg.L^{-1} , para a concentração 2 mg.L^{-1} foi afetada após 96 horas. Já para a concentrações 1 mg.L^{-1} o efeito do composto não foi registrado (Figura 1). Para o nitrito a sobrevivência das larvas foi afetada a partir de 72 horas de exposição (Figura 1). Para o composto nitrato não foi encontrado um valor de toxicidade letal, nas condições e intervalo testado, sendo que houve uma maior mortalidade na menor concentração (Figura 1).

No presente estudo demonstrou-se valores superiores de CL'_{s50} (96h) de $0,10 \text{ mg.L}^{-1}$, quanto ao observado pela EPA (1993) CL'_{s50} (48h) de $0,13 \text{ mg.L}^{-1}$ de NH_3 em larvas de *C. gigas*.

Segundo Epifanio and Srna (1975) em testes de 96 horas para toxicidade aguda em *Mercenaria mercenaria* e *Crassostrea virginica*, estas espécies apresentaram grande tolerância a compostos nitrogenados, na faixa de 3,3 a 6 mg.L⁻¹ de NH₄⁺, 756 a 532 mg.L⁻¹ de NO₂⁻ para juvenis e adultos de ambas espécies, e 2.600 a 3.800 mg.L⁻¹ de NO₃⁻ para *C. virginica*. Sabendo-se que a forma mais letal para os organismos aquáticos, é a forma não-ionizada (NH₃), eles atribuem essa alta tolerância ao fato de que em pH 7 somente 1% da porção de amônia esta na forma tóxica, enquanto em pH 8, essa proporção é de 10%. Resultado obtidos com juvenis de *Perna viridis*, demonstram que a CL₅₀ em 96 horas, são 13 mg.L⁻¹ de NH₄⁺ (Reddy and Menon, 1979). Ferretti and Calesso (2011), descrevem a CL₅₀ em 48 horas do clam (*Spisula solidissima*) em 0,12 mg.L⁻¹ de NH₃.

A alta tolerância das larvas a esses compostos nitrogenados pode estar associada à capacidade dos moluscos em fechar as valvas, se isolando do meio e diminuindo o contato com o composto tóxico. Em relação à amônia, essa tolerância pode estar atrelada ao fato do pH ficar próximo ao 7,9 durante o período teste, reduzindo a quantidade da forma tóxica (NH₃) na água (Colt and Armstrong, 1979).

Testes utilizados para determinar a toxicidade aguda dos compostos químicos, isso é, determinam o efeito em curto prazo da substância tóxica no organismo. Essa informação descreve uma letalidade relativa do tóxico, não podendo descrever a concentração que tem efeitos subletais e crônicas sobre o organismo (Buikema et al., 1982)

Durante todo o período experimental as larvas apresentaram movimento de cílios e natação normal.

Tabela 2: Valores de CL₅₀ de amônia total (NH₄⁺), amônia não-ionizada (NH₃), nitrito (NO₂⁻), nitrato (NO₃⁻) após 96 h de exposição e seus respectivos intervalos de confiança 95% (entre parênteses).

Composto (mg.L ⁻¹)	CL ₅₀ (96h)
NH ₄ ⁺	2,66 (2,65–2,98)
NH ₃	0,10 (0,10–0,10)
NO ₂ ⁻	123,47 (121,98–124,98)
NO ₃ ⁻	-

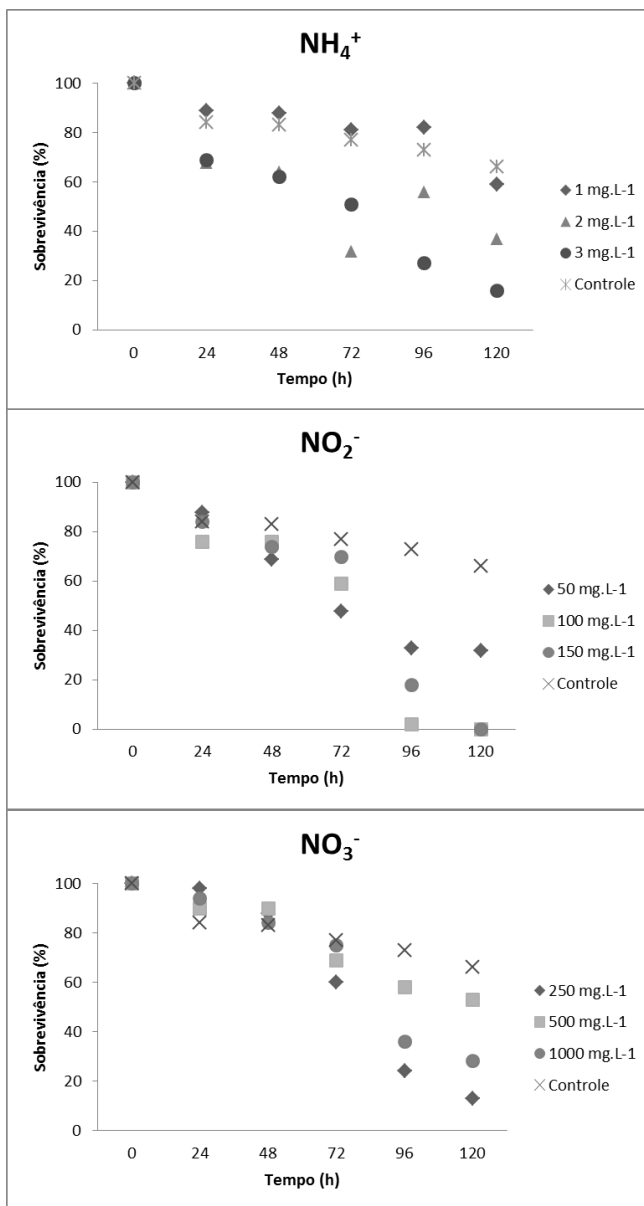


Figura 1: Sobrevivência de larvas de *Crassostrea gigas*, em diferentes concentrações de amônia (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-).

4. CONCLUSÕES

A concentração letal, capaz de matar 50% de uma população em 96 horas, é considerada alta, para os compostos nitrogenados testados. Os resultados sugerem que as mortalidades recorrentes em larviculturas são ocasionadas por outros fatores físico-químicos como temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, entre outros, ou fatores biológicos como bactérias e protozoários.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASTM, 2004. Standard Guide for Conducting Acute Toxicity Tests on Test Materials with Fish, Macroinvertebrates, and Amphibians.

Bower, C., Bidwell, J., 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH, and salinity. J. Fish. Board ... 35, 1012–1016.

Buikema, A., Niederlehner, B., Cairns, J., 1982. Biological monitoring part IV—toxicity testing. Water Res.

Colt, J., 2006. Water quality requirements for reuse systems. Aquac. Eng. 34, 143–156. doi:10.1016/j.aquaeng.2005.08.011

Colt, J., Armstrong, D., 1979. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish, and molluscs. Dept. of Civil Engineering, University of California, Davis, CA, p. 30.

EPA, 1985. Acute toxicity test for estuarine and Marine Organisms (Mollusc 48-hour embryo larvae study). EPA 550/9-85-012. Washington, DC.

EPA, 1989. Ambient water quality criteria for ammonia (Saltwater). EPA 440/5-88-004. Washington, DC.

EPA, 1993. Refinements of Current PSDDA Bioassays. EPA 910/R-9-93-014a. Seattle, WA.

Epifanio, C., Srna, R., 1975. Toxicity of ammonia, nitrite ion, nitrate ion, and orthophosphate to *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica*. Mar. Biol. 246, 241–246.

- Ferretti, J. a, Calesso, D.F., 2011. Toxicity of ammonia to surf clam (*Spisula solidissima*) larvae in saltwater and sediment elutriates. *Mar. Environ. Res.* 71, 189–94. doi:10.1016/j.marenvres.2011.01.002
- Gruber, N., 2008. The Marine Nitrogen Cycle: Overview and Challenges, in: *Nitrogen in the Marine Environment*. pp. 1–50. doi:10.1016/B978-0-12-372522-6.00001-3
- Hamilton, M.A., Russo, R.C., Thurston, R. V., 1977. Trimmed Spearman Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.* doi:10.1021/es60130a004
- Jetten, M.S.M., 2008. The microbial nitrogen cycle. *Environ. Microbiol.* doi:10.1111/j.1462-2920.2008.01786.x
- Merrick, M.J., Edwards, R.A., 1995. Nitrogen control in bacteria. *Microbiol. Rev.* 59, 604–622.
- Reddy, N., Menon, N., 1979. Effects of ammonia and ammonium on tolerance and byssogenesis in *Perna viridis*. *Mar. Ecol. Ser.* 1, 315–321.
- Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D., Clesceri, L.S., 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation.
- Russo, R.C., 2002. Development of marine water quality criteria for the USA. *Mar. Pollut. Bull.* 45, 84–91.
- Strickland, J., Parsons, T., 1972. *A practical handbook of seawater analysis*, 1972, Fisheries Research Board of Canada, Ottawa.
- Tomasso, J.R., 1994. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Rev. Fish. Sci.* doi:10.1080/10641269409388560

CAPÍTULO II - ARTIGO CIENTÍFICO

Efeito da densidade e da concentração de alimento no cultivo de larvas da ostra *Crassostrea gigas* em sistema de recirculação.

Patrick Rafael Dybas^{1, 2}, Carlos Henrique Araújo de Miranda Gomes^{1, 2}, Francisco José Lagreze Squella^{1, 2}, Claudio Manoel Rodrigues de Melo^{1*}

¹ Laboratório de Moluscos Marinhos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Rua Dos Coroas, 305, Barra da Lagoa. CEP 88.061-600, Florianópolis, Santa Catarina (SC), Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Departamento de Aquicultura (UFSC). Rodovia Ademar Gonzaga, 1346, Itacorubi, CEP 88034-001, Florianópolis, SC, Brasil.

* Autor para correspondência: claudio.melo@ufsc.br

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar os parâmetros físico-químicos da água de cultivo e parâmetros biológicos (sobrevivência e crescimento) das larvas, bem como densidades larvais e concentrações alimentares em um sistema de recirculação na larvicultura da ostra *Crassostrea gigas*. A densidade larval inicial foi de 100 larvas D.mL⁻¹ e a alimentação consistiu numa combinação de microalgas *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* e/ou *Chaetoceros muelleri*, na concentração 1 a $3,85 \times 10^4$ células.mL⁻¹. Os parâmetros físico-químicos foram estáveis durante todo o período experimental [temperatura $27,5 \pm 0,8$ °C, salinidade $30,8 \pm 1,8$, oxigênio dissolvido $6,0 \pm 0,2$ mg.L⁻¹, $91,2 \pm 3,3\%$ e pH $7,9 \pm 0,05$ (manhã) e $8,0 \pm 0,04$ (tarde)] e não foi verificada a presença de compostos nitrogenados durante os 16 dias de larvicultura ($<0,02$ mg.L⁻¹ de NH₄⁺, NO₂⁻ e NO₃⁻). A sobrevivência foi de $25 \pm 8\%$ e o tamanho final das larvas foi de 360 ± 24 µm. Foram avaliadas três densidades larvais iniciais (50, 100 e 300 larvas D.mL⁻¹) e três concentrações diferentes da combinação das microalgas *I. galbana*, *P. lutheri* e/ou *C. muelleri* (dieta A nas concentrações de 2 a 9×10^4 células.mL⁻¹, a dieta B nas concentrações de 1 a $4,5 \times 10^4$ células.mL⁻¹ e a dieta C nas concentrações de 5,2 a 140×10^4 células.mL⁻¹). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial com três repetições, durante 14 dias. A temperatura da água foi de $27,9 \pm 0,9$ °C e a salinidade da água de $29,1 \pm 0,9$. Não houve diferença significativa no número total de larvas. Contudo, a sobrevivência das larvas foi maior com concentrações B e C sendo diferente da concentração A ($p < 0,05$). Os resultados demonstram o alto potencial do sistema de recirculação em larviculturas de *C. gigas*.

Palavras chave: Sistema fechado, larvicultura, reutilização, moluscos bivalves.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate physicochemical parameters of water culture and the larvae biological parameters (growth and survival), as well as larval densities and food concentrations in a recirculating system of *Crassostrea gigas* larval hatchery. The initial larval density was 100 D.mL⁻¹, and larvae feed consisted in a microalgae combination of *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* and *Chaetoceros muelleri*, at the concentration of 1 to 3.85 x 10⁴ cells.mL⁻¹. Physicochemical parameters has been kept stable during the experimental period [temperature 27.5 ± 0.8 °C, salinity 30.8 ± 1.8, dissolved oxygen 6.0 ± 0.2 mg.L⁻¹, 91.2 ± 3.3% and pH 7.9 ± 0.05 (morning) and 8.0 ± 0.04 (late)] and nitrogenous compounds have not been found during the 16 days of larval rearing. (<0.02 mg. L⁻¹ NH₄⁺, NO₂⁻ and NO₃⁻). The survival rate was 25 ± 8% and the larvae final size was 360 ± 24 micrometers. Three initial larval densities (50, 100 and 300 larvae D.mL⁻¹) and three different concentrations for microalgae combination (*I. galbana*, *P. lutheri* and *C. muelleri*) related to the larval diet (diet A at concentrations from 2 to 9 x 10⁴ cells.mL⁻¹, B at concentrations of 1 to 4,5 x 10⁴ cells.mL⁻¹ and C at concentrations from 5.2 to 140 x 10⁴ cells.mL⁻¹) were evaluated. The experiment was conducted in a genuine randomic design and a factorial arrangement with three repetitions, during 14 days. Water temperature was 27.9 ± 0.9 °C and salinity was 29.1 ± 0.9. There was no significant difference in the total number of larvae. However, a higher survival of larvae was observed in B and C concentrations and it was different from A concentration (p < 0.05). Results demonstrate the recirculating system as a high potential method in *C. gigas* hatchery.

Keywords: Closed System, hatchery, reuse, bivalves.

1. INTRODUÇÃO

Para que as atividades aquícolas continuem crescendo, a inovação tecnológica faz-se necessária para aprimorar as técnicas de produção. Exemplo disso é o desenvolvimento de tecnologias para obtenção de sementes de moluscos em laboratório. Entretanto, o sistema estático, mundialmente utilizado nas larviculturas de bivalves, apresenta desvantagens, como o extenso espaço físico utilizado pelos tanques de larvicultura, grande volume de água gastos nas trocas de água diárias, grande quantidade de energia para aquecimento dessa água, alimentação irregular, sendo que o alimento é fornecido uma única vez ao dia, baixa densidade larval e tempo dispendido de mão de obra especializada durante os manejos. Uma das alternativas para conciliar o aumento da produção com um cultivo sustentável são as tecnologias de produção, tais como a recirculação de água.

Nos últimos anos o Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM), tem realizados testes em sistemas de larvicultura em fluxo contínuo com pequeno volume de água e alta densidade larval (Turini et al., 2014). As larviculturas realizadas em sistemas de fluxo de água contínuo trazem uma série de vantagens, com destaque à redução da área de laboratório necessária para produção em altas densidades, o controle da qualidade da água na larvicultura e a redução do tempo de manejo. (Southgate and Ito, 1998; King et al., 2004; Sarkis et al., 2006). Masser et al. (1999) definem que os sistemas de recirculação podem ser concebidos em áreas reduzidas com baixo consumo de água, além de, permitir um alto grau de controle físico-químicos da água e das variáveis ambientais, reduzir os custos de produção e viabilizar a localização dos laboratórios nas proximidades de grandes mercados.

Fatores como a temperatura da água e quantidade e qualidade nutricional do alimento podem ser importantes no sucesso das larviculturas em sistemas de fluxo contínuo de água (Helm and Bourne, 2004; Magnesen et al., 2006).

Estudos demonstram que o sistema de fluxo contínuo permite que a larva tenha uma quantidade ideal e constante de alimento (Martínez et al., 1995; Southgate and Ito, 1998; Andersen et al., 2000; Torkildsen and Magnesen, 2004).

Ostras do gênero *Crassostrea* são extremamente tolerantes a variações de temperatura e salinidades no ambiente de cultivo (His et al., 1989). Crescimento, desenvolvimento e sobrevivência são ótimos

em temperaturas de 26 °C a 28 °C e salinidade de 20 a 25 (Helm and Millican, 1977; Helm and Bourne, 2004).

No entanto, os sistemas de fluxo contínuo de água utilizados globalmente são do tipo aberto, embora reduzam a necessidade de espaço físico e de mão de obra, continuam acarretando na utilização de um grande volume de água e são difíceis de controlar as variáveis ambientais, como temperatura e salinidade.

As principais características dos sistemas de recirculação são a alta densidade de cultivo e a baixa renovação de água, além de permitir o maior controle sobre os parâmetros físico-químicos, assim como o controle de patógenos e fatores ambientais.

A eficiência dos sistemas de recirculação deve-se ao conhecimento sobre os componentes básicos e suas funções dentro do sistema fechado e das características (exigências) dos organismos cultivados em diferentes condições. Os processos físicos, químicos e biológicos que determinam a qualidade da água, o bem estar, o desempenho e a sobrevivência dos animais são parâmetros essenciais na manutenção do sistema (Wickins, 1981; Masser et al., 1999; Eding et al., 2006; Lekang, 2007; Malone, 2013).

Com relação à manutenção dos parâmetros de qualidade de água, deve-se destacar o fator temperatura. Este fator atua na velocidade dos processos metabólicos em espécies aquáticas ectotérmicas, influenciando na sobrevivência, desenvolvimento e comportamento dos organismos, além disso interfere também na solubilidade dos gases, salinidade e pressão. A salinidade age sobre o equilíbrio osmótico e na transferência de íons importantes ao metabolismo (Kinne, 1963; Newell and Branch, 1980; His et al., 1989; Helm and Bourne, 2004).

A constante renovação de água e a adição de alimento permitem uma estocagem larval de alta densidade em sistemas de fluxo contínuo (Malouf and Breese, 1977; Helm and Bourne, 2004; King et al., 2005; Ricovilla et al., 2008).

Robert and Gérard, (1999) mencionam que o cultivo de larvas no sistema de fluxo contínuo é uma realidade para a ostra *Crassostrea gigas* e enfatizam que laboratórios ingleses chegam a cultivar em densidades iniciais de até 800 larvas D.mL⁻¹, obtendo resultados finais de 70 a 100 larvas olhadas.mL⁻¹.

Sabe-se que a quantidade de alimento é fator crucial no sucesso das larviculturas, para um bom crescimento, sobrevivência e posterior sucesso no assentamento larval (His et al., 1989; Martínez et al., 1995; Magesen et al., 2006; Ricovilla et al., 2008; Ricovilla et al., 2009). Há

uma correlação negativa entre sobrevivência e concentração de microalgas, indicando que a concentração de alimento pode ser um dos fatores mais importantes no sucesso das larviculturas em sistemas de fluxo contínuo (Magnesen et al., 2006).

O objetivo do estudo foi de avaliar o comportamento dos parâmetros físico-químicos da água salgada, parâmetros biológicos, efeito da densidade larval e regime alimentar em sistemas fechados de recirculação em larvicultura de ostras *C. gigas*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e material biológico

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM), localizado na Estação de Maricultura “Elpídio Beltrame” (CCA/UFSC). As larvas D utilizadas nos experimentos foram produzidas a partir de reprodutores da ostra *Crassostrea gigas*, no LMM.

2.2 Obtenção de larva D

Para a obtenção das larvas D, foram realizadas desovas utilizando 35 reprodutores, as desovas ocorreram em janeiro e março de 2014. Os animais foram separados previamente por sexo, através de análise microscópica de uma amostra do tecido contendo gametas. As ostras foram sacrificadas para a extração dos gametas com a técnica do “*strip*”, que consiste na raspagem do corpo mole do animal com auxílio de bisturi. Os oócitos obtidos foram coletados em balde de 20 litros, e fertilizados com solução de espermatozoides, com três doses de 20 mL em intervalos de 20 minutos. Após a fertilização, esta solução foi transferida para um tanque de 20.000 L onde permaneceu por 24 h. Após este período, o tanque foi esvaziado e as larvas “D” retidas em uma peneira com malha de 35 μm . Logo após, as larvas foram transferidas para um balde graduado de 20 L, homogeneizadas, e coletadas três amostras de 1 mL, diluídas em 5 mL, quantificadas com auxílio de um microscópio para estimar a quantidade de larvas e posterior distribuição nos tanques de larvicultura.

2.3 Sistema contínuo de larvicultura em recirculação

O sistema de recirculação (Figura 2) utilizado nos experimentos I e II foi composto de um tanque de fibra de vidro com capacidade de 5.000 L, para reposição e correção da salinidade (tanque de suporte; R); dois tanques de polietileno com capacidade de 500 L, um para armazenar a água que retorna dos tanques de larvicultura (tanque de recebimento; T1) e outro tanque para armazenar a água que passou pelo sistema de filtragem (tanque de distribuição; T2); três tanques de fibra de vidro cilindro-cônicos com capacidade de 80 L, para estocar as microalgas (tanque de alimento; TAlg 1, TAlg 2 e TAlg 3); sessenta tanques cilindro-cônicos de fibra de vidro com capacidade de 5 L para larvicultura (A); duas bombas magnéticas (SICCE®, modelo SYNCRA HF 12) (P1); três bombas peristálticas (SEKO®) (Pp), com capacidade de 4 L.h⁻¹; um skimmer (PREAMAR®), modelo 300R (SK); um filtro UV (POOL CLEAN®), modelo ES-55; um filtro de disco (AGROJET®) (F2) e uma bomba de calor (NAUTILUS®) modelo AA-45) (BC).

O sistema de recirculação funcionou da seguinte maneira: água dos tanques de larvicultura (A), contendo sobra de alimento, fezes, pseudo-fezes e outros compostos em suspensão, retorna para o tanque de recebimento (T1), que é bombeada (P1) para o filtro de disco (F2), passando em seguida no *skimmer* (SK). Logo após, a água retorna para o tanque de distribuição (T2) e é bombeada (P1) para o filtro UV e, em seguida para a bomba de calor (BC). Após passar pelos filtros e pela bomba de calor, a água retorna aos tanques de larvicultura (A). O alimento foi acondicionado nos tanques de algas (Talg 1, 2 e 3, de acordo com a concentração testada) e fornecido individualmente para cada tratamento através das bombas peristálticas (Pp).

Dentro de cada tanque de larvicultura havia um filtro com pano de náilon para evitar a fuga das larvas na saída de água. Foram utilizadas 4 aberturas de malha do pano de náilon de acordo com o tamanho das larvas. As aberturas de malha utilizadas foram, inicialmente, de 35 µm, no segundo e terceiro dia de 55 µm, do quarto ao décimo dia de 70 µm e do décimo ao final da larvicultura um filtro com abertura de malha de 145 µm. O fluxo de água nos tanques de larvicultura foi de 5,5 L.h⁻¹, o que forneceu uma renovação de água de aproximadamente 26,4

vezes.dia⁻¹ para cada tanque e uma aeração de aproximadamente 0,3 L.min⁻¹. No tanque de suporte (R), a forte aeração foi mantida constante.

O manejo de limpeza dos tanques de alimento e larvicultura foi realizado a cada 72 h, com suco de limão. Os filtros foram removidos e limpos com jatos d'água a cada 72 h. A limpeza do reservatório (R) foi realizada a cada 96 h, com suco de limão. Ajustou-se o *skimmer* para a limpeza automática do copo a cada 2 h.

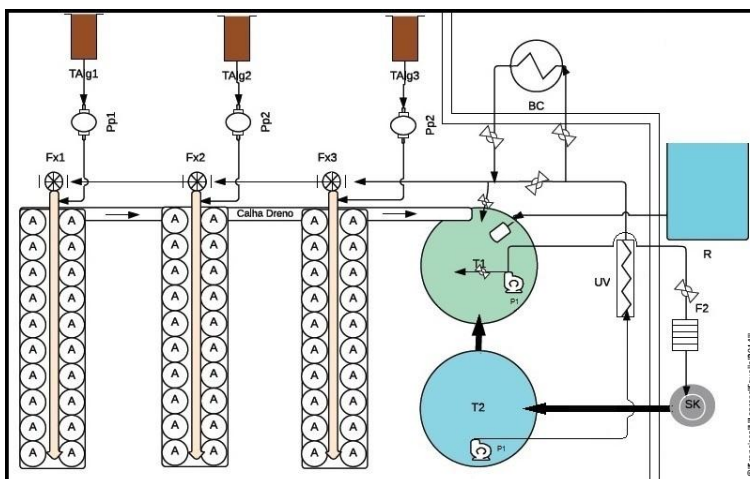


Figura 2: Esquema do sistema contínuo de larvicultura em recirculação. Onde: A: tanque de larvicultura; T1: tanque de recebimento; F2: filtro de disco; SK: *skimmer*; T2: tanque de distribuição; UV: ultra-violeta; BC: bomba de calor; TA1g 1, 2 e 3: tanque de alimento; R: tanque de suporte; P1: bomba magnética; Pp: bomba peristáltica; Fx1, 2 e 3: fluxômetro.

2.4 Experimentos

Avaliação dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo e biológicos das larvas no sistema contínuo de larvicultura em recirculação

Para avaliar a eficiência do sistema contínuo de larvicultura em recirculação, foram monitorados os parâmetros: i) físico-químicos da água no sistema (pH, oxigênio dissolvido e os compostos nitrogenados

amônia, nitrito e nitrato); e ii) biológicos das larvas: sobrevivência, tamanho das larvas e consumo de alimento. O experimento foi conduzido em 9 tanques de larvicultura (9 repetições), divididos em 3 estantes.

Foi utilizada a densidade inicial de 100 larvas D.mL⁻¹ e uma dieta composta da combinação de uma microalga flagelada (*Pavlova lutheri* e/ou *Isochrysis galbana*) e uma diatomácea (*Chaetoceros muelleri*) (Tabela 3).

Tabela 3: Quantidade e proporção de alimento fornecida nas unidades experimentais ao longo do tempo.

Microalgas (%)		Período (Dia)	Concentração final (x10 ⁴ células.mL ⁻¹)
<i>Chaetoceros muelleri</i>	<i>Pavlova lutheri</i> e/ou <i>Isochrysis galbana</i>		
30	70	1 ao 4	1,5
46	54	5 e 6	2,5
50	50	7 ao 11	3
50	50	12 ao final	3,85

A contagem de microalgas foi realizada diariamente as 10 h e as 18 h, antes dos tanques de larvicultura, e imediatamente após os tanques de larvicultura.

Amostras de água salgada para quantificação dos parâmetros de qualidade de água foram coletadas diariamente. Para a quantificação dos compostos nitrogenados e pH foram coletadas amostras as 10 h e as 18 h e para oxigênio dissolvido (OD), temperatura (T) e salinidade as 10 h.

Além da amostragem inicial (T0), foram amostradas larvas para avaliação do número de larvas, sobrevivência e crescimento com 8 (T8), 13 (T13) e 16 dias (T16) de larvicultura.

Avaliação da sobrevivência de larvas em sistema contínuo de larvicultura em recirculação

Para avaliar a sobrevivência de larvas cultivadas em sistema contínuo com recirculação, foram testadas três densidades de cultivo larval e três dietas. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso com os tratamentos arranjos em esquema fatorial 3 x 3 (três densidades de cultivo larval, três dietas), com três repetições. As densidades testadas foram: 50 larvas.mL⁻¹, 100

larvas.mL⁻¹ e 300 larvas.mL⁻¹. Para avaliar a dieta, foi testada a combinação de uma microalga flagelada (*Pavlova lutheri* e/ou *Isochrysis galbana*) e uma diatomácea (*Chaetoceros muelleri*), nas seguintes concentrações: 2 a 9 x10⁴ células.mL⁻¹ (concentração A), 1 a 4,5 x10⁴ células.mL⁻¹ (concentração B) e 5,2 a 140 x10⁴ células.mL⁻¹ (2.800 a 73.100 células de microalga.larva⁻¹.dia⁻¹) (concentração C).

O número de larvas e sobrevivência foram estimados aos 9 (T9) e 14 (T14) dias de larvicultura. Os parâmetros salinidade e temperatura foram medidos diariamente, pela manhã.

2.5 Análise das larvas

O número de larvas foi mensurado através da contagem das larvas em microscópio ótico LEICA®, em câmara de *Sedgwick-Rafter*. Para determinar o tamanho das larvas, foi medida a altura, a partir do umbo, de 30 larvas por unidade experimental, com o auxílio de software LAS EZ 2.0.0.

2.6 Consumo de alimento

Para avaliar o consumo de alimento pelas larvas foi realizada diariamente a contagem de microalgas na entrada do alimento no tanque de larvicultura e na saída da água, com auxílio de microscópio ótico, em câmara de *Neubauer*.

As larvas de *C. gigas* foram analisadas diariamente em microscópio ótico, afim de verificar a coloração do trato digestivo, e movimento dos cílios.

2.7 Quantificação do oxigênio dissolvido, pH, temperatura e salinidade

Os parâmetros físico-químicos oxigênio dissolvido, temperatura, pH e salinidade foram medidos no tanque de distribuição (T2). O oxigênio dissolvido e a temperatura foram mensurados através de oxímetro (YSI®, modelo 55). O pH foi quantificado com pHmetro de bancada (ALFAKIT®, modelo AT-350) e a salinidade com refratômetro manual (KASVI®, modelo K52-100).

2.8 Quantificação dos compostos nitrogenados

As análises de nitrogênio amoniacal foram realizadas no LMM e a quantificação de nitrito e nitrato foram realizadas no Serviço Laboratorial de Produtos de Origem Animal (SLAV/SC/LANAGRO/RS/MAPA).

Para a quantificação dos compostos nitrogenados, as amostras de água foram coletadas em dois pontos do sistema de recirculação, no tanque de recebimento (T1), logo após os tanques de larvicultura e no tanque de distribuição (T2), logo após a passagem da água pelo filtro de disco e *skimmer*. As amostras de água foram armazenadas em frascos de vidro âmbar, em geladeira.

A análise de nitrogênio amoniacal foi realizada de acordo com o método colorimétrico da Nesslerização, descrito em Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Rice et al., 2005). As amostras de água para quantificação de nitrito e nitrato foram analisadas no sistema de eletroforese capilar por zona (AGILENT TECHNOLOGIES®, modelo G1600A).

2.9 Análise estatística

Para a análise do primeiro experimento os dados foram submetidos a testes de estatística descritiva, médias e desvio padrão. O segundo experimento foi analisado através de análise fatorial.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo e biológicos das larvas no sistema contínuo de larvicultura em recirculação

A temperatura média (\pm desvio padrão) da água nos tanques de larvicultura durante o experimento foi de $27,5 \pm 0,8$ °C. A salinidade média da água fornecida às larvas no decorrer do experimento foi de $30,8 \pm 1,8$. O oxigênio dissolvido foi de $6,0 \pm 0,2$ mg.L⁻¹, $91,2 \pm 3,3\%$. O pH na amostragem das 10 h da manhã foi de $7,9 \pm 0,05$ e as 18 h de $8,0 \pm 0,04$.

Durante o período de larvicultura não foram detectados níveis de compostos nitrogenados de acordo com as metodologias utilizadas. Para a análise de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato, as amostras não

apresentaram sinais analíticos e ficaram abaixo do limite de quantificação, que foi de $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$. Os resultados de compostos nitrogenados sugerem não ser necessário o uso de filtros biológicos específicos para o sistema desenvolvido neste trabalho. No entanto, a presença do filtro de disco e *skimmer* se mostraram essenciais, uma vez que eles atuam na remoção de partículas orgânicas em suspensão, proteínas, aminoácidos, gorduras e enzimas, removendo fatores que podem desencadear o aparecimento de protozoários e bactérias, organismos extremamente prejudiciais aos cultivos.

Helm and Millican (1977) encontram melhor crescimento de larvas de *C. gigas* em temperaturas de 28°C e salinidade de 25, enquanto His et al. (1989) com 30°C e 30, em sistema estático.

Magnesen and Jacobsen (2012) descrevem variações na concentração de oxigênio dissolvido e pH em sistema de recirculação, e em sistema de fluxo contínuo. Eles atribuem essas variações ao acúmulo de CO_2 no sistema. Segundo os mesmos autores, pequenas variações (7,8 a 8,0) no pH da água no sistema de fluxo contínuo e recirculação não são significantes para as larvas de moluscos. Dentro do presente estudo foram verificadas variações diárias nesses parâmetros [$7,9 \pm 0,05$ (manhã) a $8,0 \pm 0,04$ (tarde)], corroborando com os resultados anteriores descritos.

As larvas foram alimentadas com $1,5 \times 10^4 \text{ células.mL}^{-1}$ (800 células microalga.larva⁻¹.dia⁻¹) até $3,85 \times 10^4 \text{ células.mL}^{-1}$ (10.176 células microalga.larva⁻¹.dia⁻¹) (Tabela 4). De acordo com o proposto por Lavens and Sorgeloos (1996), o sistema recebeu aproximadamente 0,22 g de microalgas no primeiro dia e 1,03 g de microalgas no último dia. Nestes valores, em média, há 39% de proteína. A ausência de compostos nitrogenados pode estar relacionada com o baixo aporte de nitrogênio no sistema, já que a biomassa seca das microalgas é irrelevante comparada ao volume de água utilizado no sistema. As microalgas *Pavlova lutheri* e *Isochrysis galbana* apresentam valores de biomassa seca de $102,3 \text{ pg.cel}^{-1}$ e $30,5 \text{ pg.cel}^{-1}$, respectivamente. Desse valor, 29% são de proteína, para ambas as microalgas (Lavens and Sorgeloos, 1996). O valor da biomassa seca para *C. muelleri* é de $49,6 \text{ pg.cel}^{-1}$ (Ohse et al., 2009). López-Elías et al. (2005) encontraram em *C. muelleri* teores de proteína variando de 38,6 a 71,7%, em cultivo estacionário protegido e de 50,1 a 71,7% em cultivo ao ar livre.

Após 13 dias de larvicultura, observou-se a presença de larvas aptas ao assentamento, indivíduos maiores que $230 \text{ }\mu\text{m}$, ou seja, larvas olhadas. Ao final de 16 dias de larvicultura, a maioria (99,9%) dos

indivíduos estavam na fase de larva olhada. O número de larvas e a sobrevivência ao final do experimento são considerados baixos mas semelhante a outros estudos realizados com o sistema de fluxo contínuo e recirculação (Magnesen et al., 2006; Magnesen and Jacobsen, 2012). Entretanto há a possibilidade aumentar a sobrevivência, aprimorando alguns aspectos e características do sistema de recirculação, tornando-o mais eficiente, chegando a 70% de sobrevivência (Andersen et al., 2000; Magnesen et al., 2006; Magnesen and Jacobsen, 2012). O tamanho das larvas foi superior ao citado por Breese and Malouf (1975), de 110-120 μm no 7º dia, 160-170 μm no 14º dia e 250-270 μm no 21º dia, para larvas de *C. gigas*, no sistema estático. Enquanto Helm and Bourne (2004) descrevem para a temperatura de 24,5 °C, tamanho de aproximadamente 160 μm no 8º dia, 260 μm no 12º dia, 310 μm no 16º dia e 320 μm no 18º dia, se assemelhando aos resultados aqui obtidos (Tabela 5).

Tabela 4: Quantidade de alimento fornecida, alimento na entrada e saída das unidades experimentais e microalgas consumidas ao longo do tempo.

	1º dia	8º dia	13º dia	16º dia
Quant. de alimento ($\times 10^4$ células.mL ⁻¹)	1,5	3	3,85	3,85
Entrada de alimento ($\times 10^4$ células.mL ⁻¹)	4	4	3,75	4,1
Saída de alimento ($\times 10^4$ células.mL ⁻¹)	2	1,7	1,5	0,9
Consumo ($\times 10^4$ células.mL ⁻¹)	2	2,3	2,25	3,2

Tabela 5: Médias e desvio padrão do número, sobrevivência e tamanho das larvas no período de larvicultura.

	1º dia	16º dia
Número de larvas ($\times 10^5$)	45	10 \pm 1,7
Sobrevivência (%)	100	25 \pm 8
Tamanho (μm)	71 \pm 3	360 \pm 24

3.2 Avaliação da sobrevivência de larvas em sistema contínuo de larvicultura em recirculação

No presente experimento os parâmetros temperatura e salinidade se mostraram constantes durante todo o período experimental, $27,9 \pm 0,9$ °C, e $29,1 \pm 0,9$, ficando próximo aos valores recomendados para *C. gigas* (Helm and Bourne, 2004).

No sistema de recirculação de água testado no presente estudo observamos larva olhada a partir do 14º dia de cultivo. Para outros sistemas, como no sistema estático, larvas olhadas de *C. gigas* são observadas a partir do 21º dia (Breese and Malouf, 1975). No presente estudo, além da recirculação, o fator temperatura e o fornecimento contínuo de alimento podem ter acelerado consideravelmente o tempo da larvicultura, reduzindo o tempo de trabalho. Helm and Millican (1977) encontram melhor crescimento de larvas de *C. gigas* em temperaturas de 28 °C e salinidade de 25, enquanto His et al. (1989) com 30 °C e 30, em sistema estático.

A concentração de $2 \text{ a } 9 \times 10^4$ células.mL⁻¹ também é utilizada nas larviculturas estáticas, onde o alimento é adicionado uma única vez ao dia.

Segundo Malouf and Breese (1977); Helm and Bourne (2004); King et al. (2005); Ricovilla et al. (2008), é possível utilizarem-se densidades iniciais de 50 a 100 larvas.mL⁻¹, aumentando consideravelmente a densidade utilizada nos sistemas tradicionais estáticos, que variam de 4 a 15 larvas.mL⁻¹.

Na concentração de microalgas de $2 \text{ a } 9 \times 10^4$ células.mL⁻¹ foi verificado o transbordamento de 3 unidades experimentais, 2 unidades com densidade de 300 larvas.mL⁻¹ e 1 unidade com a densidade 50 larvas.mL⁻¹. Na concentração de microalgas $5,2 \text{ a } 140 \times 10^4$ células.mL⁻¹ notou-se o transbordamento em 7 unidades experimentais em todas as densidades avaliadas. Fato esse, não observado na concentração de microalgas de $1 \text{ a } 4,5 \times 10^4$ células.mL⁻¹. O fornecimento constante de alimento às larvas pode ter ocasionado uma supersaturação na quantidade de alimento nas unidades experimentais, levando ao entupimento dos filtros, que consequentemente impede o fluxo de água, causando uma degradação da qualidade de água devido a presença de metabolitos, (fezes, pseudo-fezes e microalgas mortas) e ocasionando o transbordamento das unidades experimentais, consequentemente a perda de larvas. Com base nisso, observa-se que uma alimentação levando em conta o tamanho e quantidade de larvas é mais preciso.

Não houve diferença significativa no número total de larvas (Figura 3a) e sobrevivência (Figura 3b), no 9º dia de idade, entre as densidades larvais e regimes alimentares avaliados.

Não houve diferença significativa no número total de larvas, no décimo quarto dia de cultivo (Figura 4a), entre as densidades avaliadas. Contudo, a sobrevivência das larvas (Figura 4b) na concentração de microalgas 1 a $4,5 \times 10^4$ células.mL⁻¹ é equivalente a concentração de microalgas 5,2 a 140×10^4 células.mL⁻¹, entretanto difere estatisticamente ($p < 0,05$) da observada na concentração de microalgas 2 a 9×10^4 células.mL⁻¹, ou seja, a sobrevivência larval foi superior na concentração 1 a $4,5 \times 10^4$ células.mL⁻¹ e 5,2 a 140×10^4 células.mL⁻¹, seguido pela concentração 2 a 9×10^4 células.mL⁻¹.

A contagem do número final de larvas pode ter sido reduzida consideravelmente, nos três tratamentos, já que os tratamentos apresentavam larvas aptas ao assentamento, e quando elas se encontram nesse estágio, a coleta fica dificultada, devido a presença do “pé”, ocorre a formação de grumos.

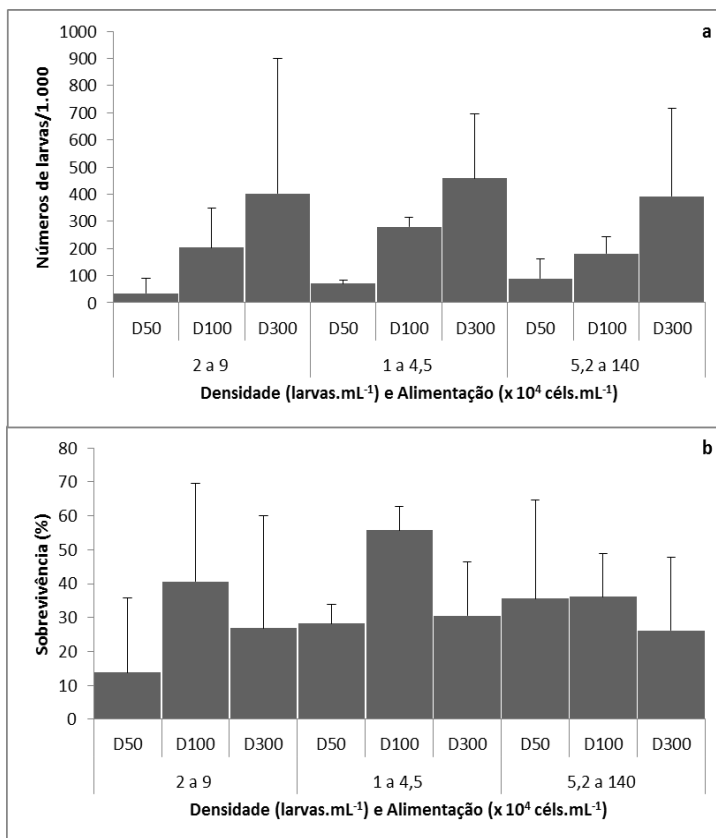


Figura 3: Número médio (a) e sobrevivência (b) de larvas no 9º dia nos tratamentos, em cada densidade e alimentação. Onde: céls = células

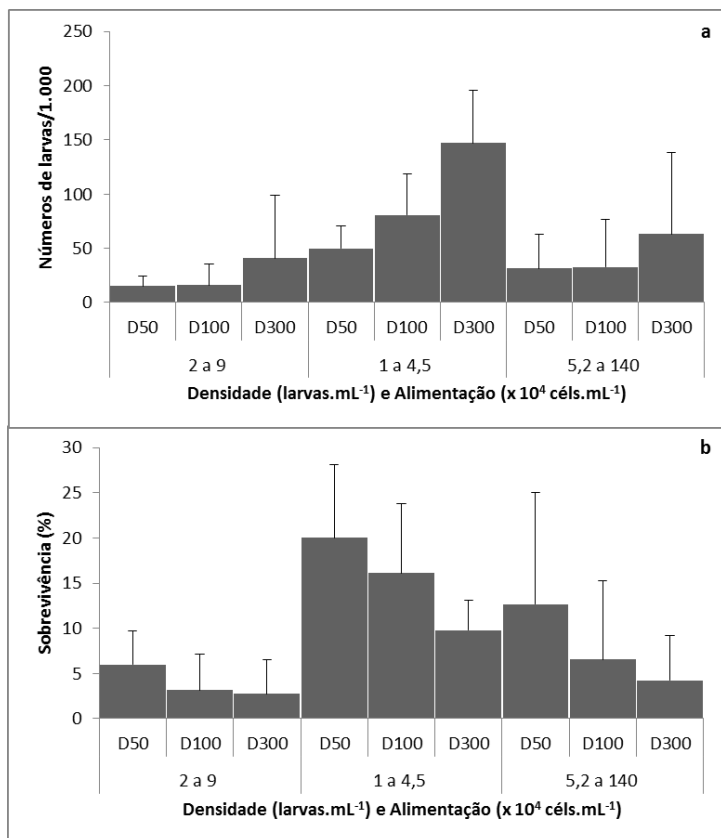


Figura 4: Número médio (a) e sobrevivência de larvas (b) no 14º dia nos tratamentos, em cada densidade e alimentação.

4. CONCLUSÕES

O sistema de recirculação de água mostrou eficiência em manter estáveis os parâmetros físico-químicos monitorados, além de otimizar o tempo necessário para a metamorfose das larvas, etapa fundamental para o desenvolvimento do animal e possibilitar um crescimento satisfatório durante o período avaliado. A presença de compostos nitrogenados depende da qualidade e quantidade de microalgas (alimento) fornecidas as larvas durante o período de larvicultura.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andersen, S., Burnell, G., Bergh, Ø., 2000. Flow-through systems for culturing great scallop larvae. *Aquac. Int.* 249–257.

Breese, W., Malouf, R., 1975. Hatchery manual for the Pacific oyster.

Eding, E.H., Kamstra, a., Verreth, J. a. J., Huisman, E. a., Klapwijk, a., 2006. Design and operation of nitrifying trickling filters in recirculating aquaculture: A review. *Aquac. Eng.* 34, 234–260. doi:10.1016/j.aquaeng.2005.09.007

Helm, M., Millican, P., 1977. Experiments in the hatchery rearing of Pacific oyster larvae (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture* 11.

Helm, M.M., Bourne, N., 2004. Hatchery culture of bivalves: A practical manual.

His, E., Robert, R., Dinet, A., 1989. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea*. *Mar. Biol.* 463, 455–463.

King, N., Janke, A., Kaspar, H., Foster, S., 2005. An intensive high density larval rearing system for the large scale simultaneous production of families of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. 4th Fish Shellfish Larvic. Symp.

King, N., Janke, A., Roberts, R., Kaspar, H., 2004. New Zealand oyster-breeding program seeks genetic improvements. *Glob. Aquac. Advocate* 59–60.

Kinne, O., 1963. The effects of temperature and salinity on marine and brackish water animals I. temperature. *Ocean. Mar. Biol. Ann. Rev.* 1, 301–340.

Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture.

Lekang, O.I., 2007. Aquaculture Engineering, Aquaculture Engineering. doi:10.1002/9780470995945

López-Elías, J.A., Voltolina, D., Enríquez-Ocaña, F., Gallegos-Simental, G., 2005. Indoor and outdoor mass production of the diatom *Chaetoceros muelleri* in a mexican commercial hatchery. *Aquac. Eng.* 33, 181–191. doi:10.1016/j.aquaeng.2005.01.001

Magnesen, T., Bergh, Ø., Christophersen, G., 2006. Yields of great scallop, *Pecten maximus*, larvae in a commercial flow-through rearing system in Norway. *Aquac. Int.* 14, 377–394. doi:10.1007/s10499-005-9039-5

Magnesen, T., Jacobsen, A., 2012. Effect of water recirculation on seawater quality and production of scallop (*Pecten maximus*) larvae. *Aquac. Eng.* 47, 1–6. doi:10.1016/j.aquaeng.2011.12.005

Malone, R., 2013. Recirculating Aquaculture Tank Production Systems A Review of Current Design Practice. SRAC Publ. No. 453 1–12.

Malouf, R.E., Breese, W.P., 1977. Food Consumption and Growth of Larvae of the Pacific Oyster *Crassostrea-Gigas* in a Constant Flow Rearing System. *Proc. Natl. Shellfish. Assoc.* 67, 7–10.

Martínez, G., Caceres, L., Uribe, E., Diaz, M., 1995. Effects of different feeding regimens on larval growth and the energy budget of juvenile Chilean scallops, *Argopecten purpuratus* Lamarck. *Aquaculture* 132, 313–323.

- Masser, M.P., Rakocy, J., Losordo, T.M., 1999. Recirculating Aquaculture Tank Production Systems Management of Recirculating Systems. SRAC Publ. No. 452 1–12.
- Newell, R.C., Branch, G.M., 1980. The Influence of Temperature on the Maintenance of Metabolic Energy Balance in Marine Invertebrates. *Adv. Mar. Biol.* 17, 329–396. doi:10.1016/S0065-2881(08)60304-1
- Ohse, S., Derner, R., Ozório, R., 2009. Production of biomass and carbon, hydrogen, nitrogen and protein contents in microalgae. *Ciência Rural* 1760–1767.
- Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D., Clesceri, L.S., 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation.
- Ricovilla, B., Pouvreau, S., Robert, R., 2009. Influence of food density and temperature on ingestion, growth and settlement of Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 287, 395–401. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.10.054
- Ricovilla, B., Woerther, P., Mingant, C., Lepiver, D., Pouvreau, S., Hamon, M., Robert, R., 2008. A flow-through rearing system for ecophysiological studies of Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae. *Aquaculture* 282, 54–60. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.06.016
- Robert, R., Gérard, A., 1999. Bivalve hatchery technology: the current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus* in France. *Aquat. Living Resour.* 12, 121–130.
- Sarkis, S., Helm, M., Hohn, C., 2006. Larval rearing of calico scallops, *Argopecten gibbus*, in a flow-through system. *Aquac. Int.* 14, 527–538. doi:10.1007/s10499-006-9052-3
- Southgate, P., Ito, M., 1998. Evaluation of a partial flow-through culture technique for pearl oyster (*Pinctada margaritifera* L.) larvae. *Aquac. Eng.* 18, 1–7.

Torkildsen, L., Magnesen, T., 2004. Hatchery production of scallop larvae (*Pecten maximus*)—survival in different rearing systems. *Aquac. Int.* 489–507.

Turini, C.S., Sühnel, S., Lagreze-Squella, F.J., Ferreira, J.F., Melo, C.M.R. De, 2014. Effects of stocking-density in flow-through system on the mussel *Perna perna* larval survival. *Acta Sci. Anim. Sci.* 36, 247. doi:10.4025/actascianimsci.v36i3.23685

Wickins, J., 1981. Water quality requirements for intensive aquaculture: A review. *Schriften der Bundesforschungsanstalt fuer Fischerei* (... 1–20.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Levando se em conta a energia assim como o tempo e o esforço humano, gastos durante o processo de larvicultura o sistema de recirculação mostra um grande potencial para as larvicultura de moluscos bivalves. Entretanto deve-se ser estudado mais a fundo, fatores que afetam o rendimento das larviculturas, como métodos e concentrações alimentares e densidade de cultivo larval.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ANDERSEN, S.; BURNELL, G.; BERGH, Ø. Flow-through systems for culturing great scallop larvae. **Aquaculture International**, p. 249–257, 2000. Disponível em:

<<http://link.springer.com/article/10.1023/A:1009271220868>>. Acesso em: 7/8/2014.

COLT, J. Water quality requirements for reuse systems. **Aquacultural Engineering**, v. 34, p. 143–156, 2006.

EBELING, J.; JENSEN, G.; LOSORDO, T.; et al. **Model aquaculture recirculation system (MARS)**. 1995.

EPA. **Recommended Guidelines For Conducting Laboratory Bioassays On Puget Sound Sediments**. Seattle, WA, 1995.

FAO. **The State of the World Fisheries and Aquaculture 2012**. 2012.

FERREIRA, J. F.; NETO, F. M. O.; SILVESTRI, F. Cultivo de moluscos em Santa Catarina. **Infopesca Internacional**, 2006.

Disponível em:

<[http://www.cca.ufsc.br/~jff/disciplinas/cultivodemoluscos/pdf/Cultivo de Moluscos em Santa Catarina 2006.pdf](http://www.cca.ufsc.br/~jff/disciplinas/cultivodemoluscos/pdf/Cultivo%20de%20Moluscos%20em%20Santa%20Catarina%202006.pdf)>. Acesso em: 9/8/2014.

HELM, M. M.; BOURNE, N. **Hatchery culture of bivalves: A practical manual**. 2004.

KING, N.; JANKE, A.; ROBERTS, R.; KASPAR, H. New Zealand oyster-breeding program seeks genetic improvements. **Global Aquaculture Advocate**, , n. June, p. 59–60, 2004. Disponível em:

<[http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:New +Zealand+oyster-breeding+program+seeks+genetic+improvements#0](http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:New+Zealand+oyster-breeding+program+seeks+genetic+improvements#0)>. Acesso em: 9/8/2014.

KUBITZA, F. Sistemas de recirculação: sistemas fechados com tratamento e reuso da água. **Panorama da aquíicultura**, 2006.

Disponível em:

<<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Siste>

mas+de+Recirculação+:+Sistemas+fechados+com+tratamento+e+reuso+da+agua#0>. Acesso em: 8/8/2014.

MAGNESEN, T.; BERGH, Ø.; CHRISTOPHERSEN, G. Yields of great scallop, *Pecten maximus*, larvae in a commercial flow-through rearing system in Norway. **Aquaculture International**, v. 14, n. 4, p. 377–394, 2006. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10499-005-9039-5>>. Acesso em: 8/8/2014.

MARTÍNEZ, G.; CACERES, L.; URIBE, E.; DIAZ, M. Effects of different feeding regimens on larval growth and the energy budget of juvenile Chilean scallops, *Argopecten purpuratus* Lamarck. **Aquaculture**, v. 132, p. 313–323, 1995. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/004484869400359V>>. Acesso em: 11/8/2014.

MEINERTZ, J. R.; GRESETH, S. L.; GAIKOWSKI, M. P.; SCHMIDT, L. J. Chronic toxicity of hydrogen peroxide to *Daphnia magna* in a continuous exposure, flow-through test system. **Science of the Total Environment**, v. 392, p. 225–232, 2008.

MELO, C. M. R.; SILVA, F. C.; GOMES, C. H. A. M.; SOLÉ-CAVA, A. M.; LAZOSKI, C. *Crassostrea gigas* in natural oyster banks in southern Brazil. **Biological Invasions**, v. 12, n. 3, p. 441–449, 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10530-009-9475-7>>.

MPA. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**. 2010.

ROBERT, R.; GÉRARD, A. Bivalve hatchery technology: the current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus* in France. **Aquatic Living Resources**, v. 12, n. 2, p. 121–130, 1999. Disponível em: <http://journals.cambridge.org/abstract_S0990744099800217>. Acesso em: 9/8/2014.

SARKIS, S.; HELM, M.; HOHN, C. Larval rearing of calico scallops, *Argopecten gibbus*, in a flow-through system. **Aquaculture International**, v. 14, n. 6, p. 527–538, 2006. Disponível em:

<<http://link.springer.com/10.1007/s10499-006-9052-3>>. Acesso em: 11/8/2014.

SINGH, S.; EBELING, J.; WHEATON, F. Water quality trials in four recirculating aquacultural system configurations. **Aquacultural Engineering**, v. 20, n. 2, p. 75–84, 1999. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144860999000035>>. .

SOUTHGATE, P.; ITO, M. Evaluation of a partial flow-through culture technique for pearl oyster (*Pinctada margaritifera* L.) larvae. **Aquacultural engineering**, v. 18, p. 1–7, 1998. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144860997000204>>. Acesso em: 8/8/2014.

TORKILDSEN, L.; MAGNESEN, T. Hatchery production of scallop larvae (*Pecten maximus*)—survival in different rearing systems. **Aquaculture International**, p. 489–507, 2004. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1023/B:AQUI.0000042143.53903.21>>. Acesso em: 9/8/2014.

WATSON, C. A.; HILL, J. E. Design criteria for recirculating, marine ornamental production systems. **Aquacultural Engineering**, v. 34, n. 3, p. 157–162, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144860905000774>>. Acesso em: 3/9/2014.

WICKINS, J. Water quality requirements for intensive aquaculture: A review. **Schriften der Bundesforschungsanstalt fuer Fischerei (...)**, p. 1–20, 1981. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF8217753>>. Acesso em: 30/8/2014.